

18. Ottesen J. Acta Physiol. Scand, 32, 75, 1954.
19. Umansky S. R., Korol B. A., Nellpouish P. A. Biochimica et Biophysica Acta 635, 9, 1981.
20. Wyllie A. H. Nature, 281, 555, 1980.
21. Yamada M., Nagao M., Miwa M., Sugimura T. J. Bioch., 77, 10—11, 1975.
22. Yoshikawa K., Tanigawa Y., Buzzio L., Koide S. S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 289—293, 1975.
23. Yoshikawa K., Tanigawa Y., Koide S. S. Biochem. Biophys. Res. Comm., 59, 2, 658, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 3, 1985

УДК 539.16.047

ОЦЕНКА ДОЗЫ ИЗЛУЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ РЕГРЕССИОННОЙ МОДЕЛИ, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ ЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

В. Б. МАТЮШИЧЕВ

С помощью множественного регрессионного анализа изучена связь уровней 11-ти энзиматических показателей с дозой (40—100 грэй) внешнего бета-облучения крыс. Отобрана группа из 6-ти тестов, совместный учет которых позволяет прогнозировать полученную животным дозу с ошибкой 13—17%.

Ключевые слова: ферменты, бета-излучение, регрессионный анализ.

Среди требований, предъявляемых к энзиматическим (и вообще биологическим) индикаторам лучевого поражения, ведущим является существование дозовой зависимости изменений соответствующих показателей [2]. До сих пор, однако, не выявлено теста, способного самостоятельно шкалировать сколько-нибудь значительные диапазоны дозовых нагрузок, и, вероятно, его вообще нет. Более обнадеживающими представляются поиски таких свойств у некоторого комплекса параметров, но подобные исследования пока единичны [3]. В этой связи задача настоящей работы сводилась к многомерному анализу пострадиационных сдвигов активности ферментов, проявивших в предварительных экспериментах способность отражать своими модуляциями выраженность нарушений, возникающих при разгар лучевой болезни, с целью выявления ферментных систем, информативных при внешнем бета-облучении организма. В качестве субстратов активности наиболее рациональным представлялся выбор плазмы крови и кожи как ткани, непосредственно повреждаемой малопроникающим излучением.

Материал и методика. Беспородных белых крыс-самцов массой 160—180 г с эпилированной кожей спины помещали в герметичную камеру и подвергали внешнему бета-облучению от ^{85}Kr в дозах 40, 60, 80 и 100 грэй. Через 1, 3, 5, 7 суток после воздействия по 10 животных из каждой подопытной группы вместе с 10-ю интактными особями декапитировали под эфирным наркозом. В плазме крови и водных экстрактах кожи, взятой с участков, лишенных перед опытом шерсти, стандартными методами измеряли активности щелочной фосфатазы, альфа-амилазы, лактатдегидрогеназы, ала-

иннаминотрансферазы, обозначаемых далее соответственно как ЩФП, ЩФК, АМЛ, АМК, ЛДГП, ЛДГК, АЛТП, АЛТК. Определяли также суммарную активность дегидрогеназ пентозного цикла в плазме (ДПП), активности аспартатаминотрансферазы и щелочной ДНКазы кожи (АС-ТК, ДШК). Абсолютные величины пострадикационной активности ферментов (мкмоль/мин на 5 мл плазмы или 1 мг экстрагированного белка кожи) выражали в долях от принятого за 1 среднего уровня их в соответствующей контрольной серии. Нормированные таким образом материалы использовались для последующего анализа. Непосредственные данные эксперимента приведены ранее [4].

Результаты и обсуждение. Среди объективных приемов изучения дозовой зависимости выявленных изменений одним из наиболее целесообразных является регрессионный анализ, позволяющий количественно оценить меру связи колебаний ферментативной активности с величиной лучевой нагрузки. По непонятным причинам, однако, этот подход еще не пользуется вниманием экспериментаторов, да и возможности метода реализуются лишь частично. Немногочисленные попытки обратиться к регрессионной модели не идут дальше простейшего варианта, описывающего парную ковариацию, причем эндогенным признаком служит доза, а предикантом какой-либо единственный биохимический показатель. В таком виде регрессионный анализ малоэффективен (если вообще не лишен смысла), а его результаты невозможно использовать. Для прогнозирования полученной организмом дозы излучения по итогам замеров ферментативной активности интерес, очевидно, представляет обратное соотношение составляющих, где доза выступает функциональным параметром уравнения связи. Не нуждается в специальном обосновании и предположение о возрастании значимости статистической процедуры с привлечением дополнительных факторных признаков. Речь идет о множественном регрессионном анализе. Хотя в действительности доза излучения, естественно, не зависит от биохимического статуса организма, по формальным мотивам мы имеем право условно принять противоположную позицию с тем, чтобы, пожертвовав четкостью интерпретации, получить взамен строгие критерии отсева неинформативных тестов. Во всяком случае для цели настоящей работы такой анализ не только корректен, но и целесообразен [5, 6]. Он был проведен на ЭВМ по стандартной программе. Получены характеристики уравнений вида: $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_{11}x_{11}$, оценивающих связь совокупности экзогенных биохимических признаков с дозой излучения, где y — средняя величина дозы при значениях x_1, x_2, \dots, x_{11} ферментных показателей, b_0 — свободный член, b_1, \dots, b_{11} — частные коэффициенты регрессии. Оказалось, что на 1-, 5- и 7-е сутки эксперимента уровни F -критерия достоверно выше теоретически определенных величин, т. е. в эти сроки линейная модель достаточно работоспособна. Общая адекватность введенных интерполяционных формул исходным данным косвенно подтверждается цифрами коэффициентов детерминации (R^2): соответственно 85, 83 и 82% варьирования дозы обусловлено существованием линейной связи между лучевой нагрузкой и совокупностью независимых переменных. Значения средних ошибок аппроксимации (ϵ) также говорят об удовлетворительной точности предсказания. Прогностические возможности системы, построенной на данных третьих суток опыта, за-

метно скромнее. Лишь в, видимо, в силу случайности выборочной оценки, находится в пределах, зафиксированных для 1-, 5-, 7-х суток, достоверность же регрессии не достигает 95%-ного порога, 26% колебаний целевой функции не воспроизводится регрессорами, а остаточная дисперсия (σ_2^2), отражающая неучтенную уравнением часть общей дисперсии дозы, максимальна.

Особую ценность для нас представляют значения коэффициентов регрессии (b_1), позволяющие решить вопрос о вкладе отдельных энзиматических показателей в прогнозирование дозы излучения. Чем больше величина коэффициента регрессии, выражающего количественную «зависимость» дозы от соответствующей переменной при исключенном влиянии всех остальных признаков, тем выше дозиметрические коэффициенты теста. Неравнозначность апробированных параметров в этом аспекте очевидна. Существенной связью со степенью лучевой нагрузки обладают на 1-е сутки ЛДГП, АЛТК, ЩФП, на 3-е—ЛДГП, ЛДГК, ДПП, на 5-е—АМК и ЛДГК, на 7-е—ЛДГК, ДЩК, АЛТК. Эти констелляции выделяются и в соответствии с критерием стандартизованных коэффициентов регрессии, показывающих, насколько «меняется» нормированное отклонение дозы при изменении нормированного отклонения данного признака на единицу. Остальные составляющие как несущественные, избыточные должны быть исключены из рассмотрения.

То, что выбраковка засоряющих систему балластных переменных действительно является полезной мерой, подтвердилось на практике (табл.). Хотя для повторного анализа было отобрано всего по 2—3

Таблица
Показатели связи уровней энзиматической активности с дозой бета-излучения

Сутки экспозиции	Фермент	Характеристики редуцированных уравнений регрессии							
		b_1	\bar{z}_{x1}	b'_0	\bar{z}_2	\bar{z}	R^2	$2 \frac{\bar{z}_x}{R}$	F
1	ЩФП	-41.59*	0.231						
	ЛДГП	34.69*	0.532	-2.19	103.57	13.85	0.771	0.087	4.95*
	АЛТК	26.43	0.237						
3	ЛДГП	14.17*	0.162						
	ЛДГК	-28.57*	0.275	96.29	227.91	16.75	0.543	0.207	2.25*
	ДПП	-35.52*	0.543						
5	АМК	20.34	0.056	91.54	87.64	13.14	0.791	0.077	5.85*
	ЛДГК	-85.07*	0.914						
7	ЛГК	-52.91*	0.431						
	ДЩК	51.2*	0.437	66.07	152.97	15.56	0.678	0.129	3.35*
	АЛТК	15.34*	0.132						

* — $p \leq 0.05$.

ферментных теста, качество редуцированных уравнений регрессии заметно улучшилось: повысилась их адекватность (связь с дозой всюду достоверна), уменьшились ошибки аппроксимации и величины остаточной дисперсии. Снижение уровней R^2 следует, естественно, приписать отсеянным признакам, при всей своей малозначимости, связанным все же с до-

зой и между собой, но в силу детерминированности принятой модели этот факт не имеет решающего значения. Поскольку ошибка предсказания дозы в 1-е и 5-е сутки составляет 13—14%, полученные линейные уравнения можно считать оптимальными в данных условиях [1]. Менее уверенный прогноз сопутствует 3-м и 7-м суткам, однако и в этих случаях добиваться большей точности только за счет исходных переменных подбором других форм связи, видимо, иррационально, необходимо вводить новые признаки.

Представление о той роли, которую играют отдельные предикаторы в определении дозы, дают параметры b_1 и δ_{ij} , характеризующие относительную долю участия признака и прогнозировании значений дозы. В обновленных вариантах уравнений также отчетливо просматриваются ведущие и подчиненные биохимические показатели. Так, в 1-е сутки бесспорно доминирующее положение ЛДГП, на 3-и — ДПП, на 7-е сутки равноправными опорными тестами служат ЛДГК и ДЩК, тогда как 5-е — отмечены тем, что доля ЛДГК в оценке дозы превышает 91%, а АМК принимает в этом чисто символическое участие. Кроме АМК, от которой можно отказаться без видимого ущерба, вспомогательные позиции занимают ЛДГП (3-и сутки) и АЛТК (7-е). Из 11-ти исходных тестов, таким образом, достаточно шести, чтобы маркировать все сроки обледования в порядке снижения разрешающей способности — ЛДГК, ЛДГП, ДПП, ДЩК, АЛТК, ЩФП.

Значение полученных результатов не исчерпывается отбором группы ферментов, обладающих задатками индикаторов бета-поражения организма. Не менее важным представляется сам факт применимости многомерного анализа к дозиметрическим исследованиям. Рассматривая выведенные прогностические уравнения как формальное средство для стохастической оценки полученной животным дозы по совокупности значений биохимических переменных, нельзя не отметить хорошее качественное соответствие структуры регрессионного множества явлениям, наблюдаемым в действительности. Знаки при коэффициентах регрессии, указывающие направление влияния факторов на результирующий признак, даже в корреляционных моделях в силу взаимосвязей между предикаторами могут инвертировать вектор того или иного изолированного эффекта. Тем весомей выглядит отсутствие существенного дрейфа теоретических данных относительно реальных. Параметры выведенных аналитических формул в целом верно отражают основные тенденции постлучевых изменений энзиматических показателей. Учитывая дополнителные искажающие моменты — сдвиги активностей ряда ферментов обнаруживают отклонения от линейной зависимости, отсчет же начинается не с нулевой точки, а с уровня, определяемого меньшей из доз, — итог апробированного метода множественной регрессии следует признать вполне удовлетворительным. Причем имеются значительные резервы минимизации расхождений между истинными и расчетными значениями дозы, способы совершенствования интерполяционных систем.

Весьма вероятно, что дальнейшие исследования выявят более эф-

фактивные тесты. Как показал эксперимент, в набор показателей, подлежащих регрессионной процедуре, не следует включать параметры, сильно коррелирующие между собой, вяло реагирующие на облучение организма или же проявляющие высокую лабильность, но дающие выраженную трансгрессию, т. е. варьирующие в узком диапазоне. Для обработки, кроме того, наиболее подходят переменные, обладающие четким дозовым трендом, непрерывным увеличением или снижением параллельно росту лучевой нагрузки. Волнообразность динамики автоматически переводит признак в разряд незначимых (даже при достоверных колебаниях активности с широкой амплитудой и различиях по отдельным воздействиям, связь с дозой в рамках линейной модели не проявится). Кажется бы, всегда есть возможность, изменив вид уравнения, сделать информативными и такие тесты, однако это абстрактная и зачастую тупиковая задача, не имеющая реального выхода. Поскольку при фазных изменениях поведение параметров непредсказуемо, получение по уравнению промежуточных между точками градуировки значений предиканта превращает идентификацию доз в неразрешимую проблему. Линейные модели в этом отношении более надежны, и вообще ценность прогностической формулы тем выше, чем она проще и чем меньше составляющих, рассчитываемых по опытным данным, содержит. Существенно, что в работе продемонстрирована пригодность метода для кластеризации потенциальных радионидикаторов. Что же касается использования регрессионного анализа в практической дозиметрии, то оно наталкивается на ограничения, справедливые для любого другого косвенного подхода и зависящие от мощности нагрузки, ее пространственного распределения, индивидуальной радиочувствительности, состояния организма в момент воздействия, хронологии самих измерений и т. п. Число степеней свободы, следовательно, здесь невелико, и экстраполяция выведенных выражений за пределы конкретных условий эксперимента чревата грубыми просчетами.

Особый интерес в этом плане представляет полностью игнорировавшаяся исследователями связь биоэффекта с типом применяемого излучения. Между тем она существует и со всей отчетливостью, в частности, выявляется при сопоставлении полученных результатов с данными нашей предыдущей работы [3]. Оказывается, что предсказание дозы рентгеновского и в особенности сочетанного излучения получается гораздо менее точным и уверенным, чем при обладающем упрощенным механизмом реализации воздействия внешнем бета-облучении, имеющем, таким образом, наиболее благоприятные перспективы ферментной индикации. Вообще же, поскольку каждый тип излучения даст свой спектр ферментных нарушений, энзимодиагностика может быть видимо, только конкретной, опирающейся на объективную информацию об источнике и общих условиях лучевого воздействия. Бессмысленны поэтому и укоренившиеся представления об отдельных тестах в качестве «хороших» или «плохих» [2]. Как было показано нами, показатели, адекватно оценивающие действие рентгеновского излучения, иногда несостоятельны в отношении характеристики последствий более мягкого бета-облучения и наоборот.

Подобные очевидные априори и подтвержденные экспериментально факты подчеркивают ошибочность господствующей ныне концепции фиксированности тестирующих свойств ферментов и помогают осознать абсолютную нереальность помыслов о практической энзимодозиметрии. В то же время индикация тяжести радиационного поражения как определенного состояния организма, по-видимому, вполне достижима именно на этом пути. На модели проведенных нами дозиметрических исследований выявлены значительные и ранее не использовавшиеся резервы радиобиоиндикации. Отсеивающее балластные показатели скрининг-тестирование, основанное на множественном регрессионном анализе результатов измерения ферментативной активности, есть основание расценивать как многообещающее направление. Выигрышной стороной такой методологии является возможность замены обычных и таких случаях отвлеченных деклараций о перспективности тех или иных тестов их точной количественной характеристикой, построенной на учете конкретных условий воздействия и подкрепленной потенцированием значимости отдельных параметров за счет эффекта суммации. Причем несомненно большие перспективы открываются именно в сфере приложимости многомерной статистики к составляющему следующий шаг исследования анализу сопряженности биохимических предсказывающих факторов с тяжестью лучевого поражения. А этой цели, в конечном счете, и служит селекция ферментных показателей, проводимая на уровне регистрации дозовых параметров.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Получено 3.1.1984 г.

ՀԱՌՈՒԿՎՈՅԹՄԱՆ ԳՈՋԱՆՅ ԳԵՆԸԱՏՈՒՄԸ ԸՆԶՅՄԱՏՈՒ ԶՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐՆ
ԸՆԴԳՐՈՂ ՌԵԳՐԵՍԻՎՈՆ ՄՈՒԿԵԼԻ ՍԳՆՈՒԹՅԱՄԲ

Վ. Բ. ՄԱՏՅՈՒՇԻՉԵՎ

Բազմակի սեզրեսիոն անալիզների օգնությամբ ուսումնասիրված է 11 էնզիմատիկ ցուցանիշների կապը առնետների արտաքին բևտա-ճառագայթման զոզայի հետ (40—100 գր.)

Ընտրված է 6 սեխտից բաղկացած մեկ խումբ, որոնց համատեղ հաշվառումը ցույց է տալիս 13—17% սխալով նախատեսել կենդանիների ճառագայթման զոզան:

ESTIMATION OF IRRADIATION DOSE BY MEANS OF REGRESSION MODEL, INVOLVING THE ENZYMATIC INDICES

V. B. MATYUSHICHEV

By means of multivariate regression analysis the relationship of 11 enzymatic indices levels with the dose (40—100 gray) of rats outward beta-irradiation has been studied. A group has been selected, consisting of 6 tests, the joint calculation of which permits the predict the dose received by the animal with error in 13—17 per cent.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Королев Ю. Г. Метод наименьших квадратов в социально-экономических исследованиях. М., 1980.
- 2 Мазурик В. К. В кн.: Итоги науки и техники. Серия «Радиационная биология», 3, 78—102, М., 1980.
- 3 Матюшичев В. Б. Дозиметрические аспекты использования ферментных критериев радиационного поражения организма. Деп. в ВНИИТИ, № 3189-83 от 9 июня 1983 года.
- 4 Матюшичев В. Б., Таратухин В. Р., Тимофеева О. Е. Радиобиология, 6, 915—918, 1981.
- 5 Мисюк Н. С., Мистыкин А. С., Кузнецов Г. П. Корреляционно-регрессионный анализ в клинической медицине. М., 1975.
- 6 Хейс Д. Причинный анализ в статистических исследованиях. М., 1981.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 3, 1985

УДК 577.352.5+577.354

АКТИВАЦИОННОЕ И ИНАКТИВАЦИОННОЕ ДЕЙСТВИЕ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТОКА ВОДЫ НА ИОННЫЕ ТОКИ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ ГИГАНТСКОГО АКСОНА КАЛЬМАРА

С. Н. АБРАПЕТЯН

Исследовалось действие осмотического градиента на мембране на возбудимые свойства мембраны гигантского аксона кальмара. Показано, что входящий поток воды активирует натриевые и инактивирует калиевые каналы, тогда как выходящий поток воды, наоборот, инактивирует натриевые и активирует калиевые каналы. Количество ТТХ-чувствительных натриевых каналов, которые участвуют в генерации одиночного потенциала действия, увеличивается при входящем и уменьшается при выходящем потоках воды.

Выходящий поток воды через мембрану приводит к устранению хвостового выходящего калиевого тока, независимо от амплитуды натриевого и калиевого токов в конне деполяризационного импульса.

Предполагается, что электрогенный натриевый насос осуществляет метаболический контроль возбудимости мембраны путем регуляции трансмембранного потока воды.

Ключевые слова: гигантский аксон кальмара, трансмембранный поток воды.

Известно, что клеточная мембрана проницаема для воды, и трансмембранный перенос ионов сопровождается также трансмембранным потоком воды и направлением осмотического градиента [2].

В предыдущих наших работах, выполненных на гигантских нейронах улитки, было показано, что клетки при активации электрогенного натриевого насоса теряют воду и уменьшаются в размере, а при инактивации или возбуждении — поглощают воду и набухают [1, 4]. Поскольку набухание клетки сопровождается повышением, а уменьшение ее размера, наоборот, понижением хемочувствительности и возбудимости мембраны [4, 6], нами была выдвинута гипотеза, согласно которой электрогенный натриевый насос регулирует возбудимость клетки не только путем изменения уровня мембранного потенциала (МП), как это